

REVISIÓN

Miotonía congénita, una miopatía no distrófica



Carmen Palma^{a,*}, Carmen Prior^b, Clara Gómez-Gonzalez^b,
Paloma Martínez-Montero^b, Samuel I. Pascual^c y Jesús Molano^b

^a C.G.M. GENETAQ, Málaga, España

^b Unidad de Genética Molecular, INGEMM, CIBERER, IdIPAZ, Hospital Universitario La Paz Madrid, España

^c Servicio de Neuropediatría, Hospital Universitario La Paz Madrid, España

Recibido el 22 de junio de 2016; aceptado el 26 de julio de 2016

Disponible en Internet el 6 de noviembre de 2016

PALABRAS CLAVE

Miotonía congénita;
Thomsen;
Becker;
CLCN1

Resumen La miotonía congénita es la forma más común de miotonía no distrófica. Esta miopatía está causada por mutaciones en el gen CLCN1, codificante del principal canal de iones cloruro del músculo esquelético (CLC-1); la alteración de la función de este canal, regulado por voltaje, da lugar al fenómeno de miotonía.

La enfermedad se puede heredar con un tipo de herencia dominante (enfermedad de Thomsen) o recesiva (enfermedad de Becker o miotonía congénita generalizada). El fenotipo clínico de ambas formas de la enfermedad es similar aunque la forma recesiva se caracteriza por una mayor gravedad de los síntomas.

El diagnóstico clínico de miotonía congénita debe sospecharse cuando encontramos en un paciente episodios de rigidez muscular (miotonía), remisión o alivio de la rigidez con el ejercicio (fenómeno warm-up), miotonía clínica, un patrón electromiográfico característico y/o historia familiar.

El diagnóstico molecular de miotonía congénita consiste en el análisis por secuenciación del gen CLCN1.

© 2016 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Myotonia congenita;
Thomsen;
Becker;
CLCN1

Myotonia congenita, a non-dystrophic myopathy

Abstract Myotonia congenita is the most common form of non-dystrophic myotonia. This myopathy is caused by mutations in the CLCN1 gene, encoding the main skeletal muscle chloride ion channel (CLC-1). Altering the function of this voltage-gated channel, leads to the phenomenon of myotonia.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: palmamilla.carmen@gmail.com (C. Palma).

The disease can be inherited with a dominant (Thomsen disease) or recessive type (Becker disease or congenital generalised myotonia). The clinical phenotype of both forms of the disease is similar, although the recessive form is characterised by more severe symptoms.

The clinical diagnosis of congenital myotonia should be suspected in a patient who presents with episodes of muscle stiffness (myotonia), remission or relief from stiffness with exercise (warm-up phenomenon), and a characteristic electromyography pattern, and/or family history.

Sequencing the CLCN1 gene is the present approach for molecular diagnosis of myotonia congenita.

© 2016 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La miotonía congénita (MC) es la forma más común de miotonía no distrófica¹. Descrita por primera vez en el año 1876 por Julius Thomsen^{2,3}, es una enfermedad producida por la alteración del principal canal de iones cloruro del músculo esquelético. Una reducción en la conductabilidad de Cl⁻ del músculo lleva a un aumento de la excitabilidad de la célula muscular y produce el fenómeno de miotonía, un retraso en la relajación muscular después de una contracción voluntaria⁴.

Los individuos afectados de MC sufren rigidez muscular al iniciar el movimiento. Esta rigidez sin embargo remite después de varias repeticiones de ese mismo movimiento, dando lugar al fenómeno conocido como *warm-up*. El fenómeno miotónico no es exclusivo de la MC, ya que aparece en otras enfermedades como la parálisis periódica hiperpotasémica, la paramiotonía congénita, y las distrofias miotónicas 1 y 2, entre otras. Siendo la miotonía la manifestación clínica más llamativa de estas enfermedades es importante una atenta observación de los síntomas, una cuidadosa revisión de la historia clínica y del patrón de herencia para poder realizar un diagnóstico diferencial.

La MC es una enfermedad de causa genética que se produce por mutaciones en el gen *CLCN1*^{5,6}. La enfermedad puede ser heredada de manera autosómica dominante (enfermedad de Thomsen) o autosómica recesiva (enfermedad de Becker o miotonía generalizada recesiva, en inglés recessive generalized myotonia). El fenotipo clínico de estas dos formas de la enfermedad es similar y a menudo difícil de diferenciar y para ello debemos observar la intensidad de los síntomas de los pacientes y el patrón de herencia en la familia afectada (tabla 1).

La enfermedad de Thomsen (OMIM 160800) se manifiesta durante la infancia temprana. Se observa un retraso en la relajación muscular y, aunque no es frecuente observar hipertrofia muscular en niños afectados, sí que aparecen los músculos de las extremidades inferiores bien definidos. Habitualmente, la enfermedad de Thomsen no se identifica hasta la adolescencia, cuando se aprecia cierta torpeza y dificultad para el movimiento después del descanso. Tiene un espectro fenotípico de leve a moderado, siendo la expectativa de vida normal. Es frecuente encontrar heterogeneidad intrafamiliar referida a la edad de aparición,

grupo muscular afectado y gravedad. No es raro diagnosticar la enfermedad en individuos clínicamente asintomáticos en los que la realización de un electromiograma demuestra un patrón miotónico.

La enfermedad de Becker o recessive generalized myotonia (OMIM 255700) es similar a la de Thomsen excepto que tiene un patrón de herencia autosómico recesivo y presenta generalmente un fenotipo más grave. Clínicamente se presenta durante la infancia o adolescencia precoz, acompañada a menudo de hipertrofia muscular. El fenómeno miotónico es más severo que en la enfermedad de Thomsen y los pacientes pueden experimentar periodos transitorios de debilidad al iniciar el movimiento⁷. Los individuos afectados pueden ver comprometido su control postural y sufrir caídas; también pueden producirse mialgias aunque no es muy común. Por último, a pesar de la hipertrofia muscular algunos individuos presentan atrofia de los antebrazos^{8,9}.

Prevalencia

No existen datos actualizados de la prevalencia de miotonía congénita y en un principio aún se aceptan las estimaciones de Becker de prevalencia entre 1:23000 y 1:50000¹⁰.

La forma recesiva de la enfermedad es más común que la dominante. Uno de los estudios en los que se apoyan estos datos es el de Fialho et al.¹¹, en el que estudiaron una cohorte de 303 pacientes residentes en Reino Unido. Los resultados de frecuencia obtenidos por este grupo fueron de un 37% de herencia dominante frente a un 40% de herencia recesiva (familias o casos esporádicos con dos mutaciones). El resto (23%) corresponde a familias y casos esporádicos en los que solo fue detectada una mutación. En estos casos, la mutación encontrada estaba habitualmente asociada a herencia recesiva. Papponen et al.¹² estiman una prevalencia para Finlandia de 7,3 en 100.000 habitantes, siendo preponderante la forma recesiva. En un estudio reciente en Inglaterra, se dan datos de muy baja prevalencia para miotonía congénita (0,52 en 100.000 habitantes)¹³.

Diagnóstico clínico

El diagnóstico clínico de miotonía congénita se sospecha en los siguientes supuestos:

Tabla 1 Características de las dos formas clínicas de MC

	Enfermedad de Thomsen	Enfermedad de Becker
Herencia	Autosómica dominante	Autosómica recesiva
Edad de aparición	Nacimiento	Primeros años
Músculos afectados	Grupos individuales de músculos	Aparición gradual que se generaliza a todos los músculos
Gravedad	Leve a moderada	Moderada a grave
Hipertrofia muscular	Ausencia a muy leve	Leve a evidente
Ratio de género	♂ ≈ ♀	♂ ≈ ♀

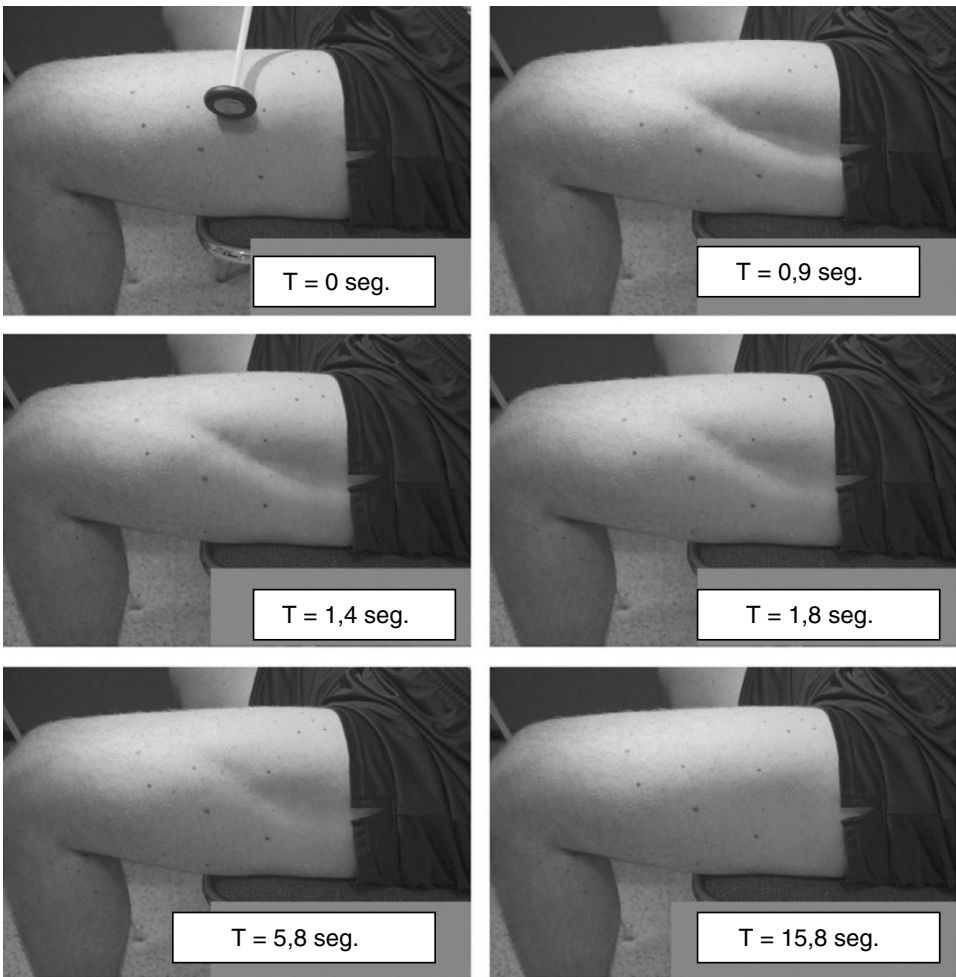


Figura 1 Miotonía por percusión del muslo. Se utilizó un martillo de reflejos para golpear el extremo distal del músculo vasto lateral y esto produjo una contracción del músculo que persistió durante varios segundos. Tomada de Lossin et al.¹⁴ con permiso del editor.

- a) Episodios de rigidez muscular o calambres de aparición en la infancia.

b) Remisión o alivio de la rigidez con el ejercicio (fenómeno *warm-up*).

c) Contracción miotónica provocada por la percusión muscular. Esta se ensaya en músculos prominentes como la eminencia tenar, la lengua o el vasto lateral de cuádriceps (fig. 1)¹⁴.

d) Patrón electromiográfico característico (fig. 2) que muestra descargas miotónicas: incrementos significativos de la actividad insercional y descargas repetitivas de elevada
- frecuencia. La duración de las descargas repetitivas se correlaciona con el retraso en la relajación muscular y representa la característica electrofisiológica típica de la enfermedad.

e) Historia familiar consistente con patrón de herencia autosómico dominante o recesivo. La historia familiar puede servir para distinguir entre estas dos entidades en algunos casos pero no siempre, debido a la variabilidad en la expresión de la enfermedad. Es siempre conveniente descartar la ausencia de miotonía en los progenitores mediante el EMG.

Tabla 2 Familia de canales CLC y su asociación con enfermedades humanas

Canal	Expresión	Función	Enfermedad humana
CLC-1	Músculo esquelético	Estabilizar el potencial de membrana	Miotonía congénita
CLC-2	Múltiple (neuronas, glía, retina, cel. Sertoli, etc.)	Transporte transepitelial	Leucodistrofia, azoospermia
CLC-Kb	Riñón, oído	Transporte transepitelial	Enfermedad de Bartter
CLC-4	Múltiple (cerebro, riñón, músculo)	Homeostasis de iones en endosomas	Retraso mental
CLC-5	Riñón, intestino	Homeostasis de iones en endosomas	Enfermedad de Dent
CLC-7	Múltiple	Homeostasis de iones en lisosomas	Osteopetrosis, degeneración retiniana

Datos tomados y resumidos de la publicación de Jentsch et al.¹⁹.

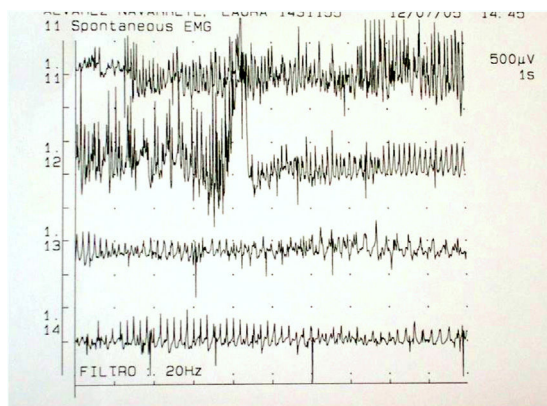


Figura 3 Descarga miotónica en un paciente con miotonía congénita tipo Thomsen. Registro continuo, barrido = 1 seg. En reposo el músculo debería estar «en silencio», sin actividad. Sin embargo hay una actividad continua de descargas repetitivas a frecuencia descendente desde 120 Hz hasta 50 Hz, desapareciendo.

que se repite y estas se sitúan en una disposición antiparalela, de forma que, la hélice B se corresponde con la hélice J, la hélice C con la hélice K y así sucesivamente (fig. 2). Además de estar unidas las dos mitades de la proteína mediante la unión I-J, ambas mitades de cada monómero están en contacto mediante las hélices C y K, H y P respectivamente²⁴.

Los dos monómeros que forman el canal se disponen formando un ángulo de 45°, entre ellos existe una zona de interfase en la que se enfrentan e interaccionan ambas subunidades, formadas por las hélices H, P, I y Q²⁴. Esta arquitectura del canal tiene importantes consecuencias en el efecto que producen las mutaciones en CLC-1 (fig. 3).

Los canales CLC carecen de un sensor de voltaje similar al que se ha descrito en otros canales iónicos dependientes de voltaje. La dependencia de voltaje para la apertura del protoporo se cree que resulta del movimiento de aniones a través del poro^{25,26}, de modo que dicha apertura depende de la concentración de cloruros y el voltaje. El análisis por difracción de rayos-X de los canales CLC bacterianos reveló que en el lugar de unión del ion cloruro en el poro intervienen cuatro hélices provenientes de ambos lados de la membrana. Ha sido propuesto que un residuo de glutamato sobresaliente dentro del poro participa en el

cierre/apertura del canal. De hecho, se ha demostrado que mutaciones en este residuo alteran de forma importante la apertura del canal²⁷.

Mutaciones en el gen *CLCN1*

El gen *CLCN1*, localizado en el brazo largo del cromosoma 7 (7q34), tiene un único transcrito codificante (referencia EMBL: ENST00000343257, referencia en Genbank, NM.000083), distribuido en 23 exones, todos ellos codificantes; se compone de 3.172 nucleótidos y codifica una proteína de 988 aminoácidos.

Hasta el momento se han descrito más de 200 mutaciones en *CLCN1* según la base de datos Human Gene Mutation Database (www.hgmd.org), siendo en su mayoría mutaciones puntuales (*missense*, *nonsense*, pequeñas delecciones, inserciones e *indels* y mutaciones de *splicing*) y dentro de estas, las más abundantes son mutaciones de tipo *missense/nonsense* (200 mutaciones descritas). En la tabla 3, de mayor a menor frecuencia, se enumeran las mutaciones encontradas en el gen *CLCN1* en una serie de 119 pacientes españoles de miotonía congénita. La mutación más frecuente en pacientes españoles es c.180 + 3A > T²⁸, que es una mutación que altera la maduración del ARN (Escudero, comunicación personal de resultados no publicados).

El diagnóstico genético de MC se establece en un probando cuando se detecta una mutación patogénica en heterocigosis en el caso de la enfermedad de Thomsen o una mutación en homocigosis o dos mutaciones en heterocigosis compuesta en el caso de enfermedad de Becker. El abordaje del diagnóstico molecular comienza por la secuenciación del gen *CLCN1*, seguida del estudio de grandes delecciones/duplicaciones mediante MLPA en caso de no identificar mutaciones patogénicas asociadas. Se estima que mediante la secuenciación del gen se pueden diagnosticar genéticamente más del 95% de los casos de miotonía congénita. La frecuencia de delecciones/duplicaciones en la población de pacientes de MC es entre el 1 y el 5% de los casos^{8,29}.

La mayor parte de las mutaciones en *CLCN1* se asocian a la forma recesiva de la enfermedad. Entre ellas están las mutaciones que generan proteínas truncadas incapaces de formar dímeros con los monómeros silvestres o que generan una ausencia de proteína debido a la disminución del ARNm por un deterioro del mismo (*nonsense-mediated decay*).

Tabla 3 Mutaciones identificadas en *CLCN1* en una serie de pacientes españoles

Mutación		Dominio	Exón/intrón	Fenotipo	Número de veces encontrada
En cDNA	En proteína				
c.180 + 3A > T			i1	Becker	23
c.1453A > G	p.Met485Val	Hélice N	13	Becker	18
c.2680C > T	p.Arg894*	C terminal	23	Becker/Thomsen	5
c.501C > G	p.Phe167Leu	Hélice C	4	Becker	4
c.1247G > A	p.Gly416Glu	Unión K-L	11	?	4
c.1471 + 1G > A			i13	Becker	4
c.1488G > T	p.Arg496Ser	Hélice N	14	Becker	4
c.1701C > A	p.Asn567Lys	Hélice Q	15	Thomsen	4
c.2284 + 5C > T			i18	Becker	4
c.302-1G > A			i2	?	3
c.1167-10T > C			i10	Becker	3
c.1262insC	p.Glu422Argfs*8	Hélice L	12	Becker	3
c.1444G > A	p.Gly482Arg	Unión M-N	13	Becker	3
c.432-5insGCA			i3		2
c.563G > T	p.Gly188Val	Filtro de selectividad	5		2
c.689G > T	p.Gly230Val	Unión E-F	5	?	2
c.698G > T	p.Gly233Val	Hélice F	6	Thomsen?	2
c.904T > C	p.Tyr302His	Hélice I	8	Thomsen?	2
c.1261C > T	p.Arg421Cys	Unión L-M	12	?	2
c.2178delT	p.Pro727Leufs*67	C terminal	18	?	2
c.2551G > A	p.Val851Met	C terminal (CBS2)	22	?	2
c.313C > T	p.Arg105Cys	N terminal	3	Becker	1
c.411C > G	p.Tyr137Asp	Hélice B	3	Becker	1
c.653C > T	p.Ala218Val	Hélice E	5	Thomsen	1
c.696 + 1G > T		Hélice E	i5	Becker	1
c.809G > A	p.Gly270Asp	Hélice G	7	?	1
c.1592C > T	p.Ala531Val	Hélice O	15	Becker/Thomsen	1
c.1938G > A	p.Met646Ile	C terminal (CBS1)	17	?	1
c.2363A > C	p.Gln788Pro	C terminal	19	?	1

Fuente: Palma, resultados no publicados. El dominio donde se localizan las mutaciones ha sido deducido a partir de la estructura de CLC-1 propuesta por Dutzler et al.²⁴ y UniProt Consortium³⁶.

Asimismo, las mutaciones que afectan aminoácidos que conforman el protoporo del canal, raramente pueden ejercer un efecto negativo sobre el otro protoporo en los dímeros mutante-silvestre, por lo que normalmente estarán relacionadas con miotonía de herencia recesiva. Otras mutaciones asociadas a la forma recesiva son las que impiden la correcta localización en la membrana celular de la proteína CLC-1³⁰.

Las mutaciones asociadas a miotonía congénita de la forma dominante son principalmente mutaciones *missense*. El efecto dominante se da en situaciones en las que una mutación afecta al cierre común del canal, o bien cuando el homodímero mutado provoca la disposición incorrecta o degradación del dímero resultante. Frecuentemente, el efecto de estas mutaciones se refleja en un cambio en el voltaje medio ($V_{0,5}$) en el que se produce la apertura del canal. De forma que, si el canal se abre solamente a voltajes más positivos que el potencial de membrana de la célula muscular, su efecto sobre la repolarización será nulo o estará muy disminuido³¹.

La mayor parte de las mutaciones con efecto dominante se localizan principalmente en las regiones que forman la interfase entre las 2 subunidades (hélices G, H, I, P y Q)³². La estructura dimérica del canal implica que, una mutación con

efecto dominante negativo podrá disminuir la actividad del canal, como máximo, hasta el 25%. Esta es la fracción de dímeros silvestre-silvestre remanente cuando una mutación dominante está en heterocigosis. Este efecto parcial de las mutaciones dominantes explica por qué la miotonía congénita de Thomsen es generalmente menos grave y con menor penetrancia que la forma recesiva, en la cual ambos alelos están mutados y hay una pérdida total de función⁹.

Otras mutaciones en *CLCN1* se han asociado a herencia dominante en algunas familias y a herencia recesiva en otras. Este fenómeno podría deberse a una expresión preferencial de uno de los alelos³³. Por lo tanto, aunque se habla tradicionalmente de las formas dominante y recesiva, el límite entre estas dos formas de herencia no está totalmente definido.

Tratamiento

Históricamente, la quinidina y la quinina se han utilizado como agentes antimiotónicos. Estos medicamentos son, por lo general, bien tolerados en dosis bajas. Sin embargo, la administración continuada de estos compuestos no está recomendada debido a su efecto tóxico que incluye

alteraciones visuales y acústicas, vértigo y síntomas gastro-intestinales. Además sus efectos antimiotónicos disminuyen con el uso repetido, de tal manera que el beneficio a largo plazo en el tratamiento de la miotonía es limitado.

Otros fármacos que se han utilizado en el tratamiento de la miotonía con distinto éxito incluyen la procaina, tocainida, mexiletina, carbamacepina, y fenitoína. Todos estos medicamentos actúan bloqueando los canales de sodio dependientes de voltaje. Mexiletina ha sido el medicamento de elección aunque su uso debe estar controlado porque existe un riesgo potencial proarritmogénico. La acetazolamina, un inhibidor de la anhidrasa carbónica, es el fármaco indicado en el tratamiento de la paramiotonía congénita, aunque a dosis más bajas ha sido utilizado también en niños con miotonía congénita³⁴. Recientemente, Novak et al.³⁵ han estudiado el efecto en ratones de dos fármacos, la lacosamida y la ranolazina, que provocan una inactivación lenta del canal de sodio. El efecto en ratones es superior al de la mexiletina pero todavía no se han realizado ensayos clínicos con estos fármacos.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores agradecen a pacientes y familiares su disponibilidad para participar en el estudio. Gracias también a Rubén de Sancho y Blanca Ejarque por su contribución en la realización de los experimentos y a Rocío Mena y María Victoria Gómez por la secuenciación de los genes *CLCN1* y *SCN4A*.

Bibliografía

- Suetterlin K, Männikkö R, Hanna MG. Muscle channelopathies: recent advances in genetics, pathophysiology and therapy. *Curr Opin Neurol*. 2014;27:583–90.
- Thomsen J. Tonische krampe in willkürlich beweglichen muskeln in folge von ererbter psychischer disposition', *arch. Psychiat. NervKrankh*. 1876;6:702.
- Johnson J. Thomsen and myotonia congenita. *Med Hist*. 1968;12:190–4.
- Lipicky RJ, Bryant SH, Salmon JH. Cable parameters, sodium, potassium, chloride, and water content, and potassium efflux in isolated external intercostal muscle of normal volunteers and patients with myotonia congenita. *J Clin Invest*. 1971;50:2091–103.
- Steinmeyer K, Klocke R, Ortland C, Gronemeier M, Jockusch H, Gründer S, et al. Inactivation of muscle chloride channel by transposon insertion in myotonic mice. *Nature*. 1991;354:304–8.
- Koch MC, Steinmeyer K, Lorenz C, Ricker K, Wolf F, Otto M, et al. The skeletal muscle chloride channel in dominant and recessive human myotonia. *Science*. 1992;257:797–800.
- Trip J, Drost G, Ginjaar HB, Nieman FHM, van der Kooi AJ, de Visser M, et al. Redefining the clinical phenotypes of non-dystrophic myotonic syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80:647–52.
- Dunø M, Colding-Jørgensen E. Myotonia congenita [Internet]. En: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, et al., editores. Fuente: GeneReviews®[Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2016. 2005 Aug 3 [updated 2015 Aug 6] [consultado 1 Oct 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301529>.
- Pusch M. Myotonia caused by mutations in the muscle chloride channel gene *CLCN1*. *Hum Mutat*. 2002;19:423–34.
- Becker PE. Myotonia congenita and syndromes associated with myotonia. Stuttgart, Germany: Georg Thieme; 1977.
- Fialho D, Schorge S, Pucovska U, Davies NP, Labrum R, Haworth A, et al. Chloride channel myotonia: exon 8 hot-spot for dominant-negative interactions. *Brain*. 2007;130:3265–74.
- Papponen H, Toppinen T, Baumann P, Myllylä V, Leisti J, Kuivaniemi H, et al. Founder mutations and the high prevalence of myotonia congenita in northern Finland. *Neurology*. 1999;53:297–302.
- Horga A, Raja Rayan DL, Matthews E, Sud R, Fialho D, Durran SCM, et al. Prevalence study of genetically defined skeletal muscle channelopathies in England. *Neurology*. 2013;80:1472–5.
- Lossin C, George AL. Myotonia congenita. *Adv Genet*. 2008;63:25–55.
- Meola G, Sansone V, Rotondo G, Mancinelli E. Muscle biopsy and cell cultures: potential diagnostic tools in hereditary skeletal muscle channelopathies. *Eur J Histochem*. 2003;47:17–28.
- Trip J, Drost G, Verbove DJ, van der Kooi AJ, Kuks JBM, Notermans NC, et al. In tandem analysis of *CLCN1* and *SCN4A* greatly enhances mutation detection in families with non-dystrophic myotonia. *Eur J Hum Genet*. 2008;16:921–9.
- Machuca-Tzili L, Brook D, Hilton-Jones D. Clinical and molecular aspects of the myotonic dystrophies: a review. *Muscle Nerve*. 2005;32:1–18.
- Mankodi A, Takahashi MP, Jiang H, Beck CL, Bowers WJ, Moxley RT, et al. Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of *CLC-1* chloride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy. *Mol Cell*. 2002;10:35–44.
- Jentsch TJ, Friedrich T, Schriever A, Yamada H. The CLC chloride channel family. *Pflügers Arch*. 1999;437:783–95.
- Jentsch TJ, Poët M, Fuhrmann JC, Zdebik AA. Physiological functions of CLC Cl⁻ channels gleaned from human genetic disease and mouse models. *Annu Rev Physiol*. 2005;67:779–807.
- Ludewig U, Pusch M, Jentsch TJ. Two physically distinct pores in the dimeric CLC-0 chloride channel. *Nature*. 1996;383:340–3.
- Saviane C, Conti F, Pusch M. The muscle chloride channel CLC-1 has a double-barreled appearance that is differentially affected in dominant and recessive myotonia. *J Gen Physiol*. 1999;113:457–68.
- Accardi A, Pusch M. Fast and slow gating relaxations in the muscle chloride channel CLC-1. *J Gen Physiol*. 2000;116:433–44.
- Dutzler R, Campbell EB, Cadene M, Chait BT, MacKinnon R. X-ray structure of a CLC chloride channel at 3.0 Å reveals the molecular basis of anion selectivity. *Nature*. 2002;415:287–94.
- Pusch M, Ludewig U, Rehfeldt A, Jentsch TJ. Gating of the voltage-dependent chloride channel CLC-0 by the permeant anion. *Nature*. 1995;373:527–31.

26. Chen TY, Miller C. Nonequilibrium gating and voltage dependence of the ClC-0 Cl⁻ channel. *J Gen Physiol.* 1996;108:237–50.
27. Fahlke C, Yu HT, Beck CL, Rhodes TH, George AL Jr. Pore-forming segments in voltage-gated chloride channels. *Nature.* 1997;390:529–32.
28. Mazón MJ, Barros F, de La Peña P, Quesada JF, Escudero A, Cobo AM, et al. Screening for mutations in Spanish families with myotonia. Functional analysis of novel mutations in *CLCN1* gene. *Neuromuscul Disord.* 2012;22:231–43.
29. Raja Rayan DL, Haworth A, Sud R, Matthews E, Fialho D, Burge J, et al. A new explanation for recessive myotonia congenita: exon deletions and duplications in *CLCN1*. *Neurology.* 2012;78:1953–8.
30. Papponen H, Nissinen M, Kaisto T, Myllylä VV, Myllylä R, Metsikkö K. F413C and A531V but not R894X myotonia congenita mutations cause defective endoplasmic reticulum export of the muscle-specific chloride channel CLC-1. *Muscle Nerve.* 2008;37:317–25.
31. Pusch M, Steinmeyer K, Koch MC, Jentsch TJ. Mutations in dominant human myotonia congenita drastically alter the voltage dependence of the ClC-1 chloride channel. *Neuron.* 1995;15:1455–63.
32. Duffield M, Rychkov G, Bretag A, Roberts M. Involvement of helices at the dimer interface in ClC-1 common gating. *J Gen Physiol.* 2003;121:149–61.
33. Dunø M, Colding-Jørgensen E, Grønnet M, Jespersen T, Vissing J, Schwartz M. Difference in allelic expression of the *CLCN1* gene and the possible influence on the myotonia congenita phenotype. *Eur J Hum Genet.* 2004;12:738–43.
34. Sie LTL, Stunnenberg B, Trip J, Ginjaar IB, Drost G. Clinical experience with acetazolamide treatment in children; good response in both sodium and chloride channelopathies. *Neuromuscul Disord.* 2009;19:646.
35. Novak KR, Norman J, Mitchell JR, Pinter MJ, Rich MM. Sodium channel slow inactivation as a therapeutic target for myotonia congenita. *Ann Neurol.* 2015;77:320–32.
36. UniProt Consortium. UniProt: a hub for protein information. *Nucleic Acids Res.* 2014;43:D204–12.